LAB10

Group A6

Immunology

- Methods
- Test

* Immunology methods:-

طرق مناعية نشتغلها عن طريق الأمصال تعتمد على serology
Ag , Ab يتم دراسة أكثر الطرق شيوعاً و استخداماً
في المختبرات والمستشفيات الحكومية والخاصة.

1- Agglutination method:

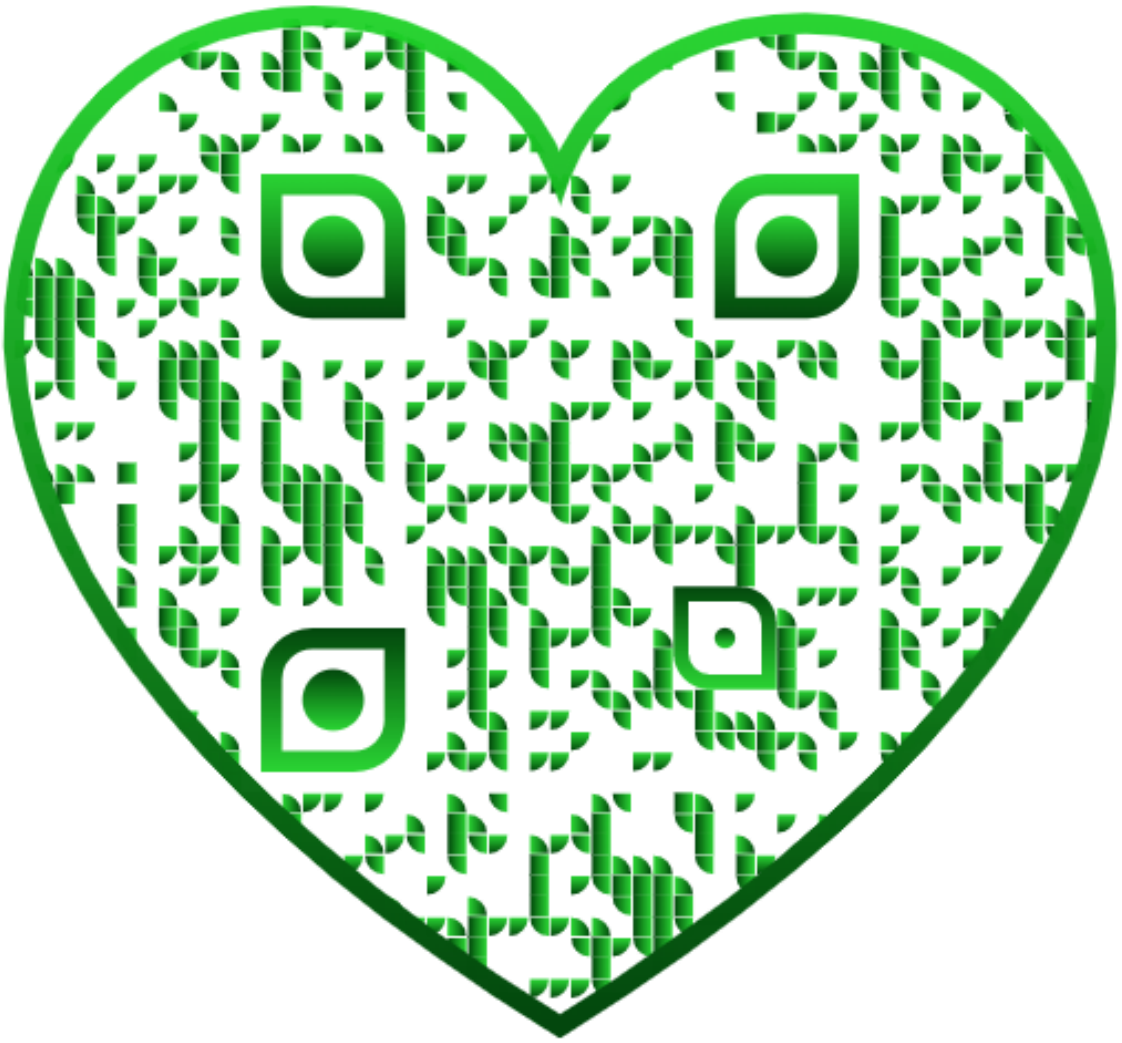
يحصل تخثر تعتمد على Ab, Ag reaction تظهر لنا النتيجة
بشكل ← visible clamping أي اذا حصل تخثر تكون
النتيجة +Ve واذا لم يحصل تخثر تكون -Ve

- rapid test فحص سريع لكنه غير دقيق او مضمون
- Agglutination method depended on:

Speciment
- Serum Contain Ab so → the reagent Contain Ag
- Blood Contain Ag so → The reagent Contain Ab

لما يحصل Ag, Ab reaction ← visible clamping
+Ve
Seen under light

او لا يحصل Ag & Ab reaction ← -Ve

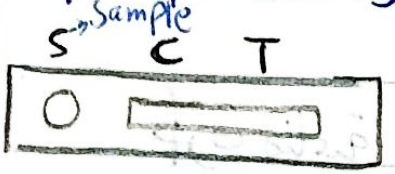


نتأكد من النتيجة عن طريق استخدام ←

2_Immunochromatography technigue:

طريقة تعتمد على Color يعمل لنا هذا اللون indicator

ان الفحص +ve ، طريقة الشغل باستخدام latex cassette عبارة عن شريط مكتوب عليه نوع الفحص مثال:-



مثل HCG

فحص الحمل

- هذا cassette يوجد داخله Latex or filter paper محمل عليها Ab أو Ag على حسب العينة إذا كانت العينة Serum نحمل عليها Ag وإذا كانت blood نحمل عليها Ab

- في الباكت يكون مكتوب لنا Ant-HCG او HCG-Ab

اي ان الكاست يحتوي على Ag واحنا نبحث على Ab

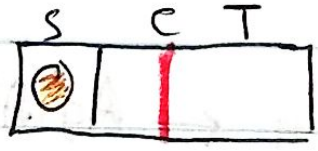
تكون العينة Serum or urine 3 drops نحط Sample في مكان pipette باستخدام Filter-p أو بالتشبع ويوصل لعند Ag يحصل reaction يظهر لنا color(red line)

اذا كانت النتيجة +ve . هنا في Cassette ← 2 band

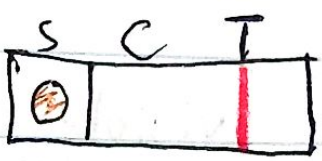
T = test + C = Control

ايضاً في الباكت يكون مكتوب كيفية قراءة النتيجة

+Ve

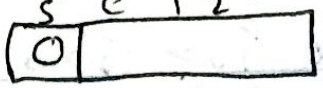


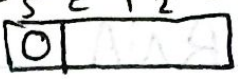
-Ve

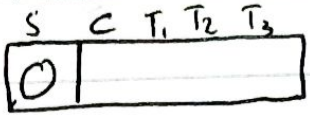


The cassette expired or invalid

Notes :

- بعض الفحوصات يكون معاها 3 bands مثل
  - HIV 

, HSV 

  - Malaria 

- هذا الفحص يعتبر Cassette rapid test قد تكون النتيجة دقيقة وقد تكون غير ذلك لذلك في فحص HCV, TB لابد ان نتأكد باستخدام Eliza

---

3- Eliza يعتمد على light

الجهاز يشتغل تلقائياً، احنا نسحب العينة من المريض ونفصلها على حسب (plasma, blood, serum) ثم نحطها في حافظ سيرم نحطه في الجهاز والجهاز يأخذ كمية مقدرة من العينة وكمية من المحلول ويعمل Mixing، ويقرأ النتيجة. إذا قرأ النتيجة على مراحل فهو يعمل wash بين كل مرحله ومرحله كل هذا عبارة عن close system داخل الجهاز وتتم القراءة عن طريق الضوء: الطول الموجي للمحلول حيث تظهر لنا النتيجة على شكل titer أو number ونقارنها بـ N.R اذا كانت في حدود N.R يعني ان النتيجة -ve وإذا كانت في أكثر النتيجة +ve لكن في حالة HIV و T.B لابد ان نتأكد بواسطة PCR خاصة في T.B قبل ان يأخذ المريض العلاج لانه يستمر على العلاج من ٦ أشهر إلى سنه كامله.

4) PCR

فحص دقيق جداً يعتمد على DNA , RNA

---

* Immunoserological test :-

1- ABO System ⟶ Blood grouping (معرفة) ⟶ Blood trasfusion

Blood grouping (معرفة) ⟶ New-born diseases

- New born diseases

يحصل أثناء الولادة عندما تكون الأم -ve والجنين +ve

فعند الولادة ينتقل دم من الطفل إلى الأم ويتكون أجسام مضادة في دم الأم ضد الطفل الثاني أو الثالث يحصل إجهاض أو يولد الطفل لكنه يعاني من امراض مثل sickle cell anemia لذلك خلال 24 ساعة من الولادة لابد ان نعطي الأم Anti-D

- نشتغل ABO system بطريقة

→ Aggultination method

لايوجد طريقة اخرى وهذه الطريقة تعتمد على :-

1- Speciment - blood (Ag)

2- Reagent - Anti sera (Ab)

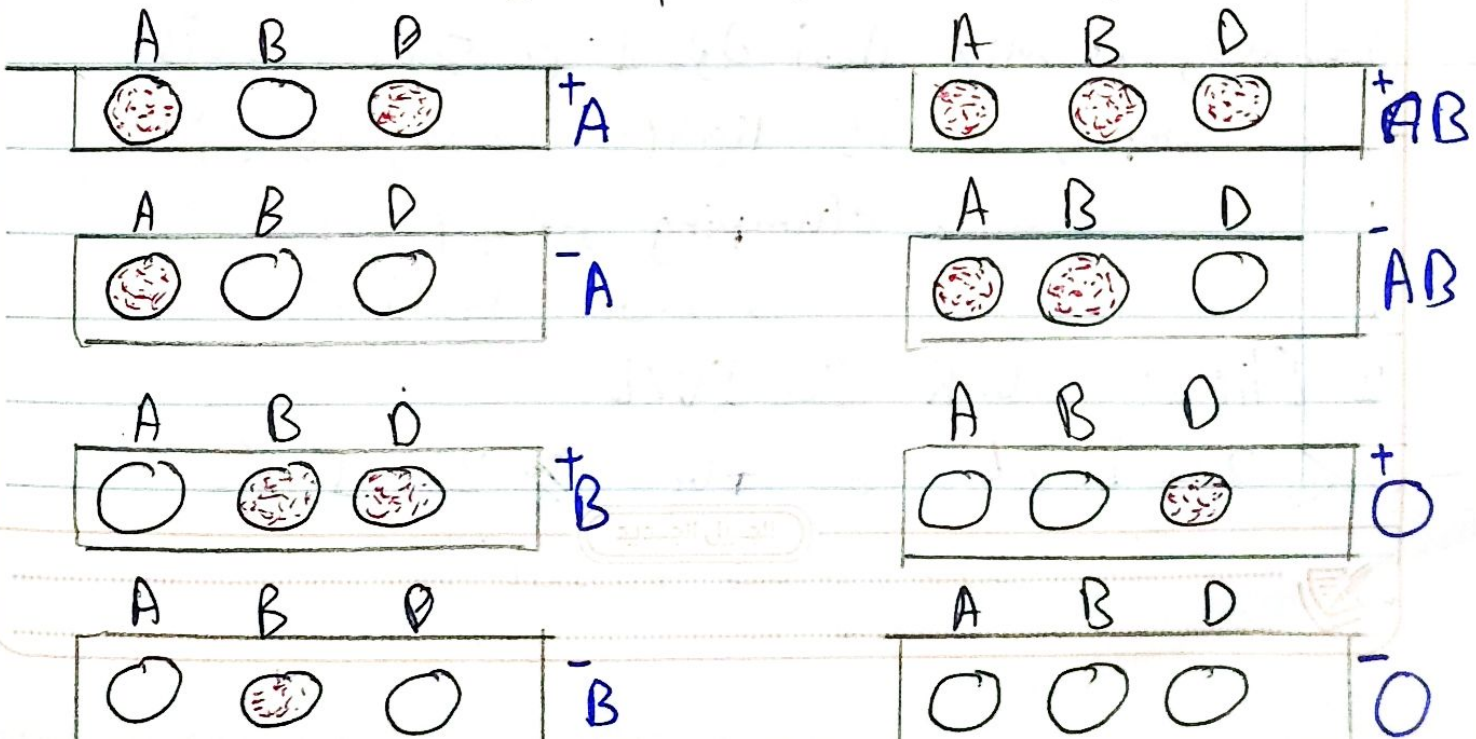
فصائل الدم	Ag	Ab
A	A	B
B	B	A
O	—	AB
AB	AB	—

* طريقة الفحص نأخذ sample ← blood من الأصابع أو الأوردة • لما نأخذ العينة من الأصابع نستخدم Blood lance ← single use تكون معقمة بواسطة Radation قبل أن نفتحها يجب ان نشوف جهة الدبوس و بعدين نفتحها من الجهة الأخرى حتى لا تتلوث •

- نعقم إصبع المريض الإبهام أو البنصر بواسطة إيثانول 70% ثم نقوم بالوخز بعدين نأخذ 3drops على الشريحة ونحط

one drop from → anti A → blue color
one drop → anti-B → yellow
one drop → Anti-D → colorless
Card slid → white

- لأن العينة blood لازم يكون معانا glass slid or Card slid عشان نشوف التخثر لذلك نستخدم نحطها على جهاز حزاز أو نعمل تحريك يدوي بشكل دائري لمدة دقيقة إلى دقيقتين ثم نشوف النتيجة :-



2-) ASO , RF , CRP

- ASO = Anti-streptolysin-o : toxin preduse by strept. pyogen secret in:

1- Tonsilitis: in children the ASO increase in blood
إذا حصل إهمال ولم يأخذ إبرة Penicillin كل 21 يوم يتحول إلى
↳ Rheumatic fever in adult

2- scarlet fever: Strept. pyogen الحمى القرمزية تكون بسبب

3- Endocardites: يكون بسبب إما إهمال

Tonsilitis → (تتحول إلى) Rheumatic Fever → (تتحول إلى) EndoCardites

- طريقة الفحص:

1- Agglutination method:

- هنا Reagent ← white لذلك نستخدم Black slid or black card
- نأخذ Serum مع المحلول نعمل Mix ثم نحركهم بشكل دائري ونشوف تحت light إذا ظهر clumping ← +Ve
إذا لم يظهر clumping ← -Ve
أو نشتغل عن طريق

2- Eliza: N.R 200 IU/L

-Ve. ≤ 200 IU/L & +Ve > 200 IU/L

النتيجة هنا تكون دقيقة جداً

- RF= Rheumatic factor:
Arthritis أو Rheumatic fever لحالة تطلبه في
تشتغله بطريقتين :

1. Agglutination method
2. Eliza : N.R ≤14 mg/dL

- CRF = C-Reactive protein secret from liver
inflammation or infection يرتفع في -
- نشتغله بطريقتين :-

1. Agglutination method
2. Eliza N.R 0.5 mg/dL
- أحياناً يرتفع في الملاريا أو Dengue إلى 8-9
Covid في 20-40 أول مرة يوصل إلى

- تخثير فحص ESR يكون عكله نفس عمل CRF
اي يرتفع في inflammation infection
N.R male ٢٠/ , Female ١١/
- ESR = Erythrocyte Sedimentation rate
معدل ترسب RBCs

* هذه الفحوصات نطلبها مع بعض حيث تكون نتائجها مرتبطة
- CRP - ESR → inflammation or infection
- RF - Aso → increase in the same infection: RF, Tonsilitis
Endocardities, arthritis

3) Pregnancy test
- HCG = Human chorionic Gonadotropin.
- Increase in male in prostatic cancer
In Female in pregnancy or tumar
- تشتغل هذا الفحص بطريقتين:
A) Cassette = Immunochromatography
- يكون معانا 2sample ← Blood - Serum or urine
لكن blood يكون أدق لانه مايظهر الا متأخر في urine
- In blood: يظهر في اليوم السابع إلى اليوم العاشر من الإخصاب
- In urine: يظهر خلال 10 ← 14 يوم
- طريقة Cassette نحط 3 drops of serum or urine
ثم ننتظر 5-10 min إذا ظهر sample معكاس
لازم نتأكد بواسطة Eliza
B) Eliza = β-HCG
يُطلب هذا الفحص في prostatic cancer.
- في Female ← في الحمل فحص دقيق جداً يساعد في تحديد مراحل الحمل بالاسبوع و الشهر وكذلك اذا كان الحمل عنقوي أو خارج الرحم

N.R < 5.5 U/L -ve
> 5.5 U/L +ve

- نقرأ النتيجة من خلال Test على حسب Titer
- معناها interpretation من خلاله نعرف انو حمل for all titer عنقودي أو خارج الرحم أو إنه في اليوم أو الاسبوع أو الشهر

4) H. Pylory

- فحص جرثومة المعدة قرحة المعدة أو القولون يكون بسبب بكتريا Hlicobacter ايضاً تسبب القولون العصبي
- من صفات هذه البكتيريا :- Gram -ve bacilli
Motile, Urease +ve, Non Capsulated
- Diagnosis:

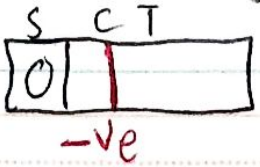
A- Serum -Ab:

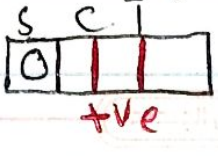
- تظهر في معظم الأشخاص سواء عندهم جرثومة أو ماعندهم هذا يعني ان الشخص حامل Ab لكن لم تظهر عليه الأعراض.
- لذلك الأغلب يكون عندهم Serum Ab +ve وذلك نتيجة البيئة التي تعيش فيها، الأكل، المشاكل، Stress

---

B- Stool -Ag:

- هذا الفحص أدق من Serum -Ab طريقة الشغل يكون معانا Cassette ويكون فيه buffer diluent
اي لابد من عمل تخفيف للعينة لتسريع الفحص.
- اي نقوم بأخذ جزء من العينة ونحطها داخل buffer ثم نعمل Mix لمدة دقيقة إلى دقيقتين يكون droper نحط 3drops مكان Sample ونتنظر من 5-10 min ونقرأ النتيجة





- بعض المرضى نكتفي بطلب Serum Ab, Stool-Ag

إذا كانت حالة المريض المادية تمام ويشتي يتأكد نطلب فحص

C- Eliza: Titer يطلع لنا

D- Urea breath: نطلب من المريض ان Eliza اذا فحص يصير من 8-12 hours ثم نعطيه Urea capsule يشربها وننتظر 10min

اذا كان عنده H.Pylory وهذه البكتيريا تكسر

Urea ⟶ Amonia + CO_2 by Urease enzyem

ثم نعطي المريض Card ينفخ فيه هذا Card عليه Ag والمريض يطلع Ab يحصل reaction ونقرأ النتيجة من خلال الجهاز حيث له Titer محدد

>5 U/L +ve ، <5 U/L -ve

E- Endoscope

يعمله طبيب جراح يأخذ biopsy من جدار المعدة ونرسلها إلى قسم histopathology.

---

5) Malaria

Caused by plasmodium 4 spp: (Falciparum, [redacted] Vivax, Ovale, malariae).

* Transmision by:

A- Anopheles.

B- blood tranfusion

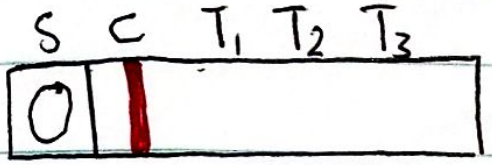
C- pregnancy women: نادر انه ينتقل من الأم إلى الجنين تظهر الأعراض على الطفل بعد سنوات

نشتغلها بطريقتين :-

1_ serology : Cassette _ Ag

- نأخذ 3drops of blood + 3drops of buffer ثم نعمل Mix

- يكون معانا شريط مكتوب عليه Malaria



T_1 = Falciparum

T_2 = Vivax

T_3 = Malariae

- بعد ما عملنا Mix نحط 3drops مكان sample ننتظر 5-10min ثم نقرأ النتيجة إذا طلعت +ve نشوف spp.

ثم نتأكد بواسطة :

2) Haematology : Blood Film

- نأخذ قطرة دم من المريض نحطها على glass-slid ونفردها يكون بشكل اللسان نتركها تجف ثم نثبتها بواسطة Ethanol ثم نصبغها بواسطة giemsa stain أو leshman نشوف RBCs داخلها plasmodium يكون على مراحل :-

(ring ، gameto cyte ، schizot)

هذا الفحص يأكد لنا أن الملاريا موجودة